

第151回 弘前医学会例会

〔日時：平成26年1月31日(金) 13:30～
場所：弘前大学医学部コミュニケーションセンター〕

例会講座

「がん細胞イメージングを実現する蛍光ブドウ糖 fLG」

弘前大学大学院医学研究科・統合機能生理学講座
山田 勝也

背景

生物の基本的なエネルギー源であるブドウ糖（正式名グルコース）には、構造的にD型と、これを鏡に映した形L型が考えられる。自然界にはD型のみが存在し、生物はD型（D-グルコース）を細胞の中に取り込んで様々に利用する。

さて、がん細胞は通常細胞と比較して、より多くのD-グルコースを消費することが知られている。そこで、この性質を利用してがんを通常組織と識別してイメージングするPET（陽電子断層法）検査が実用化している¹⁾。

しかし、PET検査は放射性標識されたD-グルコース誘導体を用いるため、空間的な分解能が悪く、2-3 mm以下の微小がんや早期がんを検出できない。また、D-グルコースは正常細胞も取り込み利用することから、がんと正常組織のコントラストが十分といえない。更に、炎症とがんの識別が困難であることも臨床上の課題となっている。

蛍光標識されたD-グルコース誘導体の使用

そこで、早期がんや微小がんを検出する目的で、蛍光標識されたD-グルコースを利用する研究が進められている。蛍光標識D-グルコースとして世界で最も広く使用されている標準分子は我が国で開発された2-NBDG（図1A）である^{2,3)}。

2-NBDGは緑色の蛍光を発し、哺乳動物細胞内にD-グルコースと共通の分子機構を通過して取り込まれ⁴⁾、世界で広く用いられている唯一の分子である⁵⁻⁷⁾。最近、米国グループは、2-NBDGをヒト生検標本に適用してがん細胞の可視化を試みている⁸⁻¹⁰⁾。しかし、2-NBDGはD-グルコースの誘導体であるため、正常細胞にも取り込まれ、がん部のコントラストが低下する¹¹⁾。またD-グルコース誘導体を用いるPET検査と同様に、炎症や損傷との識別等、非立体選択的な取り込みと識別することが難しい¹⁰⁾。

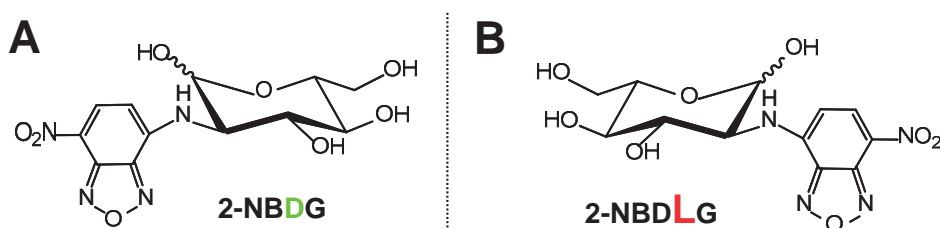


図1

FLG 法によるがん細胞イメージング

筆者らは非立体選択的な取り込みの発生を検出する為、2-NBDGの対照化合物として、自然界に存在せず、GLUTに結合できないと考えられるL-グルコースを緑色蛍光で標識した2-NBDLG(図1B)を(株)ペプチド研究所の協力を得て開発した¹²⁻¹⁴⁾。2-NBDLGは、2-NBDGと鏡像関係にある光学異性体である。従って、もし2-NBDLGが細胞内に取り込まれれば、本分子中でグルコース部分の立体構造の違いに依存しない、すなわち非立体選択的な取り込みの発生がわかるはずである。

ところが驚いたことに、正常細胞が利用できないL-グルコースを蛍光標識した2-NBDLGは、培養がん細胞に特異的に取り込まれた¹⁵⁾。更に、理化学研究所尾上浩隆グループディレクターとの共同研究において、がん細胞を移植した担癌マウスでも2-NBDLGの有用性が確認された¹⁵⁾。

ただし、2-NBDLGは2-NBDGと同じ緑色の蛍光色を有する為、両者を同時に使用すると互いに区別できない。そこで、2-NBDLGとは異なる赤色の蛍光色を有し、かさ高い蛍光基により細胞膜を通過できない分子として既に開発していた2-TRLG¹⁶⁾を、2-NBDLGと同時に使用することにより、非立体選択的な取り込みの発生を蛍光色の違いにより検出する方法を考案した^{15,16)}。

2-TRLGは、損傷細胞や炎症細胞には取り込まれるが、幸い正常細胞や健全な細胞膜を保持しているがん細胞には取り込まれない^{15,16)}。そこで、2-TRLGを2-NBDLGと同時に用いて、これをがん細胞の集合に適用することにより、がん細胞と、正常細胞、あるいは損傷・炎症細胞を、蛍光色の違いにより識別することが可能である。そこで、この方法をFLG法と名付けた。

本法のヒト組織への有効性を調べるため、がん患者から得た生検標本にFLG法を適用する臨床試験が、医学部倫理委員会の承認を経て、弘前大学機関研究として本学消化器血液内科、消化器外科、産科婦人科、泌尿器科の各臨床講座、ならびに病理生命科学講座の協力を得て行われている。FLG法による蛍光イメージングの結果と、その後の病理組織学的診断結果とを比較検討からは、非常に有望な結果が得られつつある。

現在、FLG法を実験室の特殊な装置を用いて行う方法から、臨床現場や検査部で使用しやすい方法へと発展させるための装置開発や、ヒトの体内に適用する際の安全性を評価するGLP試験等も実施している。今後、第三者機関での検証を経て、患者、医師、病理医、検査士に迅速的確に情報を伝えるがんの新しい体外診断法の一つとして、あるいはまた新しい体内診断法の一つとしての展開が期待される。

参考文献

- 1) Gambhir, S. *Nature Rev. Cancer* 2:683-693 (2002).
- 2) 2-[N-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-D-glucose; Yoshioka, K. et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1289:5-9 (1996).
- 3) Yamada, K. et al., *Nature Protocols* 2:753-762 (2007).
- 4) Yamada, K. et al., *J. Biol. Chem.* 275:22278-22283 (2000).
- 5) Ohtsubo, K. et al., *Cell* 123:1307-1321 (2005).
- 6) Rouach, N. et al., *Science* 322:1551-1555 (2008).
- 7) Zhong, L. et al., *Cell* 140:280-293 (2010).
- 8) Nitin, N. et al., *Int. J. Cancer* 124:2634-2642 (2009).
- 9) Langsner, R.J. et al., *Biomed. Optics Express* 2:1514-1523 (2011).
- 10) Thekkekk, N. et al., *Techol. Cancer Res. Treat.* 10:431-441 (2011).
- 11) Sheth, R.A. et al., *J. Biomed. Optics* 14:064014-1-7 (2009).
- 12) 2-[N-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-L-glucose
- 13) Yamamoto, T. et al., *Tetrahedron Lett.* 49: 6876-6878 (2008).
- 14) Yamada, K. et al., WO 2010/016587 A1, 欧州特許 EP 2 325 327 B1 (2013).
- 15) Yamada, K. et al., WO2012/133688 A1.
- 16) Texas Red-coupled 2-amino-2-deoxy-L-glucose; Yamamoto, T. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21:4088-4096 (2011).